青环海蛇蛇毒组份中的胰蛋白酶抑制剂

TRYPSIN INHIBITOR IN *HYDROPHIS CYANOCINCTUS* VENOM

关键词：青环海蛇，蛇毒，胰蛋白酶抑制剂

Key words：Hydrophis cyanocinctus, Snake venom, Trypsin inhibitor

青环海蛇属海蛇科，在我国南海与东海很常见。它的毒液有很强的毒性，其中含有神经毒素及多种蛋白质(Liu *et al*., 1973、1974；苏拔贤，曾家荣等，1984）。

已知蝰蛇科与眼镜蛇科蛇毒中含有蛋白酶抑制剂（Sadaaki Iwanaga *et al*., 1975；Yasuji Hokama *et al*., 1976）。但尚未见关于海蛇科蛇毒中有胰蛋白酶抑制剂的实验报道。我们的工作中，初步发现海蛇科的青环海蛇蛇毒及其组份表现胰蛋白酶抑制剂活性。

实验材料：以咬皿法取得活蛇毒液，冻干后的青环海蛇蛇毒呈白色海绵状，易溶于水。

试验方法：胰蛋白酶活力测定（张龙翔等，1981年，生化实验方法和技术：172—173）；胰蛋白酶抑制剂活性测定参照卵类粘蛋白抑制活性测定方法（张龙翔等，1981，生化实验方法和技术：141）；蛋白质含量测定采用紫外吸收法在280nm处测定样品液的光密度，然后在蛋白质标准线上找出相应的蛋白质微克数。

电泳分析（曾家荣、苏拔贤等，1986，中山大学学报：122—123）。采用pH4.3，聚丙烯酰胺凝胶浓度为15%的连续凝胶圆盘电泳，胶条长9厘米左右，电极缓冲液为0.9*N*乙酸，电极上正下负，电压100伏，3毫安/管。电泳时间2小时20分，电泳完毕后以10%三氯乙酸固定30分钟，用考马斯亮兰R250溶液染色2小时。

实验结果

① SephadexG—75柱层析：3.044克蛇毒冻干粉溶于12毫升重蒸水中，上SephadexG—75柱（2.7×94厘米）。层析室温度控制在6℃左右后，用重蒸水（pH 6.3）洗脱，流速3毫升/7.5分，每3毫升为1管，分部收集。从每管中取出0.1毫升，分别加水稀释至3.0毫升，测OD_{280}，结果见图1。

②胰蛋白酶抑制剂活性见表1。

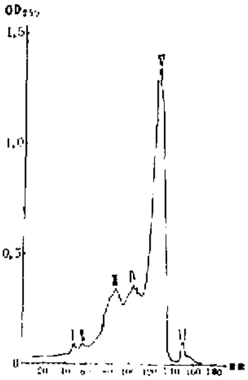

图1 青环海蛇蛇毒SephadexG—75柱层析图谱

表1

组份编号	S—Ⅲ	S—Ⅳ	S—Ⅴ	S—Ⅵ	蛇毒
胰蛋白酶抑制剂活性(TAME单位)	3	6.7	5.2	28	27
反应液中样品蛋白质浓度（微克/毫升）	5.67	8.73	4.77	5.43	26.2
比活力（TAME单位/毫克蛋白）	529	767	1090	5157	1031
提纯倍数	0.513	0.743	1.06	5.00	1

（下转436页）

本文1987年12月29日收到，1988年2月15日修回。

（上接426页）

S—Ⅵ组份的胰蛋白酶抑制剂活性为蛇毒的5.00倍。

③聚丙烯酰连续凝胶园盘电泳结果见图2。

S—Ⅵ在前述电泳条件下为接近负极的单一的带。

蛇毒中的蛋白酶抑制剂的功能可能是对蛇毒中的其它活性蛋白质起保护作用，使其免受环境中蛋白酶的破坏。这也间接提示在早期治疗毒蛇咬伤时，应用适当过量的胰蛋白酶才能破坏蛇毒中的毒素与酶，特别是对于含胰蛋白酶抑制剂的蛇毒更需加量。

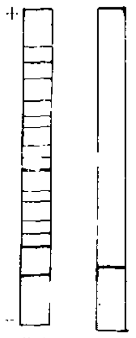

图2　聚丙烯酰胺连续凝胶园盘电泳图谱

卓肇文　程明哲　柯衡明　苏拔贤
（中山大学）

庞福雄　吴世海　莫有群　许禄远
（广西海洋研究所）

Zhuo Zhaowen Cheng Mingzhe Ke Hengming Su Baxian
(Zhongshan University)

Pang Fuxiong Wu Shihai Mo Youqun Xu Luyuan
(Institute of Oceanology, Guangxi)